Aus dem Institut für Hygiene und Mikrobiologie
der Julius-Maximilians-Universität Würzburg
Vorstand: Professor Dr. med. H. P. R. Seeliger

Quantitative Bestimmung verschiedener Keimarten des Säuglingsstuhles in Abhängigkeit von bestimmten Kostformen

INAUGURAL-DISSERTATION

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Mathilde Helene Matt
aus Kirchhain

Würzburg 1970

Aus dem Institut für Hygiene und Mikrobiologie
der Julius-Maximilians-Universität Würzburg
Vorstand: Professor Dr. med. H. P. R. Seeliger

Quantitative Bestimmung verschiedener Keimarten des Säuglingsstuhles in Abhängigkeit von bestimmten Kostformen

INAUGURAL-DISSERTATION

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Mathilde Helene Matt
aus Kirchhain

Würzburg 1970

Referent: Professor Dr.med. H.P.R. Seeliger

Tag der Promotion:

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A) Einleitung	1
B) Material und Methodik	4
1. Herkunft der Stuhlproben	4
2. Untersuchungsablauf	4
3. Methodik der Stuhluntersuchung	5
4. Quantitative Auswertung	9
C) Ergebnisse	10
1. Allgemeine Beobachtungen	10
2. Mikroskopische Befunde	10
3. Kulturelle Befunde	12
D) Diskussion	25
E) Zusammenfassung	37
F) Anhang	38
I. Zusammenstellung der verwendeten Nährmedien	38
II. Zusammenstellung der verabreichten Kostformen	41
G) Literaturverzeichnis	I-V

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543520_0067

A) EINLEITUNG

Der meist überwiegende Anteil der Darmbakterien des Menschen besteht in den verschiedenen Lebensaltern aus grampositiven, sporenlosen, unbeweglichen, anaerob wachsenden Stäbchen. Diese aus verschiedenen Arten zusammengesetzte Gruppe hat offensichtlich keine pathogene, eher eine physiologische Bedeutung und gehört zur normalen Keimflora des Menschen. Das gilt weitgehend auch für die ebenfalls grampositiven Darmstreptokokken (Enterokokken). Fast ebenso regelmäßig, aber in geringeren Anteilen, finden sich beachtliche Keimzahlen von gramnegativen Stäbchen aus der Familie der Enterobacteriaceae und jenseits des Stillalters vor allem die gramnegativen, sporenlosen Anaerobier. Letztere machen beim Erwachsenen meist ein Vielfaches der ebenfalls gramnegativen Enterobacteriaceae aus und übertreffen in dieser Altersgruppe auch quantitativ nicht selten die grampositiven Darmkeime.

Die klinisch orientierte, bakteriologische Stuhlanalyse konzentriert sich nur auf den Nachweis pathogener Darmkeime, die meist der großen Enterobacteriaceae-Familie angehören. Diese stellt aber im Verhältnis zu den anderen Bakterienarten nur einen relativ geringen Anteil der gesamten Stuhlflora.

Die große Menge aller Darmbakterien läßt sich quantitativ nur mit anaeroben Züchtungsverfahren erfassen. Durch Entwicklung besserer Züchtungsmethoden, insbesondere im anaeroben Milieu, wurde die dominante Stellung der anaeroben Laktobazillen gegenüber den gramnegativen Stäbchen sowohl im Kot des Brustkindes als auch in dem des Flaschenkindes gesichert. So züchteten JENSEN u. Mitarb. 1945 bereits 11×10^9 Bifidusbakterien aus einem Gramm Faeces. SEELIGER u. WERNER (1962) berichten, daß der Anteil der grampositiven, anaerob wachsenden Stäbchen (Laktobazillen und Bifidusbakterien) bei brustmilchernährten Säuglingen mindestens bei $n \times 10^9$ bis $n \times 10^{10}$ / g, beim Erwachsenen bei $n \times 10^8$

bis n x 10^9 / g Faeces liegt. Hierdurch wurden die schon seit 1900 bekannten bakterioskopischen Befunde von TISSIER kulturell erhärtet.

Auch die anaerob wachsenden gramnegativen Stäbchen sind ein normaler, quantitativ aber zurücktretender Bestandteil der Darmflora des Säuglings und Kleinkindes. Erst im Stuhl des Erwachsenen nehmen sie eine vorherrschende Stellung ein. Beim Brustkind stellt das eindeutige Überwiegen von grampositiven Bifidusbakterien und Laktobazillen bei oft völligem Fehlen der gramnegativen strikten Anerobier den Ausnahmefall dar (HAENEL 1957a).

Eine solche Dominanz ist beim künstlich ernährten Säugling meist nicht mehr vorhanden. Hier variieren Bifidusbakterien und andere Stuhlkeimarten ständig in ihren Anteilen. Diese sind abhängig von der Nahrung, den Umwelteinflüssen und der Darmtätigkeit (MAYER 1956). Nach BOVENTER (1949) nimmt die Zahl der Bifidusbakterien bei reichlichem Zucker- und Milchgenuß zu, bei reichlicher Eiweißzufuhr dagegen stark ab. Die grampositiven Anaerobier der Bifidusgruppe, denen anscheinend ein günstiger Einfluß auf den Wirtsorganismus zukommt, zeigen als Bestandteil der Stuhlflora eine beachtliche Konstanz, solange eine optimale Nahrung verabreicht wird (ADAM 1954, KANDLER 1969).

Nachdem in den zurückliegenden zwei Jahrzehnten Diagnostik, Methodik der Züchtung auf Selektivnährböden und quantitative Erfassung der anaerob wachsenden, grampositiven Milchsäurestäbchen soweit verbessert wurden, daß eindeutige qualitative und quantitative Aussagen möglich sind, läßt sich der Einfluß verschiedener Kostformen auf die Darmflora sicherer abgrenzen. Eine der wichtigsten, mit der Säuglingsnahrung und ihrem Einfluß auf die Zusammensetzung der Darmflora zusammenhängenden Fragen ist, ob es eine Säuglingskost gibt, die die Muttermilch völlig ersetzen kann und dabei die Ansiedlung einer physiologischen Bifidusflora im Darm gewährleistet. Hierauf kann weitgehend positiv geantwortet werden. Bekanntlich ist eine größere Anzahl von Säuglings-

nahrungen im Handel, die mehr oder weniger bifidogen wirken. Trotzdem wird weiter versucht die Milchnahrung des Flaschenkindes zu verbessern, vor allem durch noch stärker bifidogen wirkende Zusätze.

Die nachfolgenden Untersuchungen beschäftigen sich mit folgenden Fragen:

1. In welchen Mengen liegen die anaerob wachsenden Laktobazillen (insbesondere Bifidusbakterien) im Stuhl einer unter definierten Ernährungsbedingungen stehenden Gruppe von Säuglingen vor, die mit einer bekannten Milchkost ernährt werden?

2. Welche Unterschiede bestehen zwischen dieser und einer weiteren Säuglingsgruppe, deren Nahrung einen zusätzlichen bifidogenen Wirkstoff enthält?

3. In welchen Relationen stehen die anaeroben Milchsäurestäbchen dieser Kollektive zu anderen Faecalkeimen?

4. Wird die Relation zwischen den anaeroben Laktobazillen und den anderen Faecalkeimen durch einen neuartigen Zusatz (Lactulose) zur Kost noch stärker beeinflußt, ggf. in welchem Sinne?

B) MATERIAL UND METHODIK

1. Herkunft der Stuhlproben

Untersucht wurden 82 Stuhlproben von 9 Säuglingen eines Würzburger Säuglingsheimes. Die Probanden, im Alter von 10 - 100 Tagen, waren unter gleichen äußeren Lebensbedingungen bezüglich Raum, Pflege und ärztlicher Überwachung untergebracht. Medikamente wurden während der Untersuchungsperiode nicht verabfolgt. Die Stuhlentnahmen erstreckten sich jeweils über 4 Wochen (bei 4 Kindern) bzw. 5 Wochen (bei 5 Kindern). In jeder Woche wurden von jedem Säugling zwei Stuhlproben in Abständen von 3 bzw. 4 Tagen frühmorgens den Windeln entnommen und zum Laboratorium gebracht. Der Zeitraum bis zur bakteriologischen Verarbeitung der Stühle betrug in keinem Falle mehr als 2 bis höchstens 4 Stunden.

2. Untersuchungsablauf

Die Untersuchungen wurden in zwei Abschnitten durchgeführt:

Versuchsreihe I : Säugling A - E

Zur Untersuchung kamen 50 Stuhlproben im Zeitraum von 5 Wochen. Drei dieser fünf Säuglinge bekamen eine Woche lang eine bekannte, mit Citronensaft gesäuerte Milchkost (im weiteren "Nahrung A"), daran anschließend für drei Wochen dieselbe Nahrung mit einem neuentwickelten bifidogenen Faktor (nachfolgend "Nahrung B") und abschließend nochmals für eine Woche "Nahrung A" (vgl. Anhang, II.). Die anderen zwei Säuglinge erhielten durchgehend 5 Wochen lang "Nahrung A".

Versuchsreihe II : Säugling F - J

Zur Untersuchung kamen 32 Stuhlproben im Zeitraum von 4 Wochen. Die 4 Säuglinge dieser Reihe wurden während der ersten Versuchsreihe mit einer "Eiweißmilch" (vgl. Anhang, II) ernährt. Zwei der vier Kinder be-

kamen danach eine Woche lang "Nahrung A", zwei über die gleiche Zeit "Nahrung B". Im Anschluß daran erhielten alle vier Säuglinge eine 2/3-Milch mit "Lactulose" (vgl. Anhang, II) für die Dauer von einer Woche. Abschließend wurden alle vier Probanden mit der "Eiweißmilch" wieder für eine Woche ernährt.

3. Methodik der Stuhl-Untersuchung

a) Verarbeitung der Proben und Kulturverfahren

Ungefähr 0,5 g frische, mit einer Torsionswaage gemessene Faecesmenge wird mit Phosphatpuffer-Lösung 1 : 100 (entspricht 1 g + 99 ml) verdünnt und mit Hilfe eines Homogenisators (Omni-Mixer "Sorvall" - Fa. Hormuth-Vetter, wissensch.Apparate, 6908 Wiesloch/Baden) nicht länger als zwei Minuten zu einer Aufschwemmung verarbeitet. Von der so gewonnenen Ausgangsverdünnung (1 : 100) wurde mittels einer sterilen physiologischen Kochsalzlösung mit 0,1 % Pepton-Zusatz in Stufen von 1 : 10 (1 ml Stuhlverdünnung + 9 ml phys.Kochsalzlösung) weiter auf 10^{-3} bis 10^{-10} verdünnt. Dabei wurde für jede Stufe die Pipette gewechselt. Je 0,1 ml der Verdünnungen 10^{-2} bis 10^{-10} wurden auf die Oberfläche verschiedener Agar-Nährböden pipettiert und mit sterilen Glasspateln gleichmäßig verteilt. Die für diese Untersuchung benutzten Nährböden sowie die Anzahl der pro Nährbodenart beimpften Platten sind aus Tabelle 1 zu entnehmen.

Die Bifidus-Nährböden (Hammelblut-Agar nach HACKENTHAL - BIERKOWSKI, Laktobazillen-Agar, Laktobazillen-Agar mit Sorbinsäurezusatz) wurden drei Tage bei 37° C nach dem von REUTER 1961 angegebenen anaeroben Verfahren bebrütet:

Hierzu diente die Evakuierungsmethode mit anschließender Leuchtgasfüllung in Kombination mit dem Pyrogallolverfahren nach KOCH 1934. Nach Einlegen der Pyrogallol-Pottasche-Kieselgur-Tütchen in die Deckel der beimpften Nährbodenschalen wurden die Platten in ein Glasgefäß mit dicht abschließendem Glasdeckel (ZEISSLER-Topf) gestapelt, dieser wurde an der Wasserstrahlpumpe bis 20 Torr evakuiert und anschließend mit Leuchtgas bis zum Druckausgleich gefüllt. Dieses Verfahren wurde daraufhin nochmals wiederholt, um auch letzte Spuren von O_2, die sich im Substrat befanden, herauszuwaschen. Dabei wurden die für die anaerobe Bebrütung vorgesehenen 7 Platten einer Stuhlverdünnungsstufe in 7 verschiedene Gefäße verbracht. Da die quantitative Keimausbeute wesentlich von einer exakt durchgeführten Anaerobiose abhängt, hätte ein unterschiedliches Wachstum in Anzahl und Größe der Kolonien auf den Nährsubstraten eine mangelhafte Anaerobiose angezeigt.

Zur Feststellung eines ausreichend anaeroben Milieus wurde in jedes Kulturgefäß ein "Anaerobic Indicator" nach BREWER, ALLGEIER und MC LAUGHLIN (1966) gelegt. Dieser besteht aus einem für Sauerstoff durchlässigen Beutel aus Teflon mit gepufferter glucosehaltiger 0,2 % Methylenblaulösung. Wenn der Sauerstoff aus dem Anaerobier-Topf entfernt ist, verliert die Methylenblaulösung nach einigen Stunden ihre Farbe und wird farblos.

Das Einstapeln der Platten einer Stuhlverdünnungsstufe in verschiedene Glasgefäße brachte außerdem folgenden Vorteil: Wenn beispielsweise beim zu schnellen Evakuieren eines Anaerobengefäßes die Nährböden von ihrer Unterlage abgehoben wurden, so daß die beimpfte Seite im Deckel der Petrischale zu liegen kam und eine Zählung der Kolonien dadurch unmöglich wurde, standen nach der Bebrütung immer noch weitere 6 Platten der gleichen Verdünnungsstufe zur qualitativen und quantitativen Auswertung zur Verfügung.
Die Bebrütungszeit betrug ca. 72 Stunden bei 37°C.(S.Tabelle 1 S. 7)

b) Differenzierung der Bifidus-Bakterien

Nach der Bebrütung wurden die gewachsenen Kolonien auf den Nährböden normalerweise mit der Lupe beurteilt, bei sehr geringem und nicht eindeutigem Wachstum der Keime wurde das Plattenmikroskop herangezogen, um die Kolonien besser zu identifizieren und sauberer abimpfen zu können. Von den bifidusverdächtigen Kolonien, zu erkennen an typischer Farbe, Form, Oberfläche, Größe und Konsistenz, wurden Gram-Präparate angefertigt und Subkulturen auf HACKENTHAL-BIERKOWSKI-Agar angelegt, die dann wieder 2 - 3 Tage anaerob bei 37°C bebrütet wurden. Bifidus-Kolonien wuchsen in unterschiedlicher Färbung: tiefbraun, hellbraun, graubraun und graugrünlich. Auf den Nährböden, die mit den Stuhlverdünnungen von 10^{-9} und 10^{-10} beschichtet waren, wurden vereinzelt auch tiefblaue Kolonien beobachtet. Die Mehrzahl der Kolonien waren 2 - 3 mm groß, erhaben oder flach und von feuchter cremiger Konsistenz. Diese Kolonien waren in physiologischer Kochsalz-Lösung homogen verreibbar.

Vereinzelt wurden tiefbraune, sehr erhabene, 1 - 2 mm große, trockene, in toto verschiebbare Kolonien gefunden. Diese ließen sich nur krümelig in physiologischer Kochsalz-Lösung verreiben. Waren in gramgefärbten mikroskopischen Präparaten folgende morphologische Kriterien zu erkennen - pleomorphe, grampositive bis gramlabile Stäbchen, z.T. verzweigt oder keulenförmig, mitunter granuliert, nicht selten auch in abgerundeten Formen ("Blähformen") vorliegend - wurden die gleichartigen Kolonien quantitativ erfaßt.

Die in den Subkulturen reingezüchteten Keime wurden nach mikroskopischer Kontrolle weiter differenziert. Hierzu gehörte die Prüfung von

Tabelle 1: Übersicht über die benutzten Ansätze mit den verschiedenen Nährböden

Nährmedien	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10}	Bebrütung
3 % Menschenblut-Agar			3	3	3	3	3	3		1 - 2 Tage bei 37^0 C aerob
Fuchsin-Milchzucker-Agar nach ENDO			2	2	2	2	2	2		
Lactose Indikator-Nährboden nach MC CONKEY			2	2	2	2	2	2		
Dextrose-Pepton-Agar nach SABOURAUD	1	1	1							3 - 4 Tage bei 37^0C aerob
Hammelblut-Agar nach HACKENTHAL-BIERKOWSKI				3	3	3	3	3	3	3 Tage bei 37^0 C anaerob (Pyrogallol - Pottasche - Kieselgur plus Leuchtgas)
Laktobazillen-Agar					1	1	1	1	1	
Laktobazillen-Agar mit Sorbinsäure-Zusatz					1	1	1	1	1	

Gelatinase-, Nitratase-, Katalase- und Gasbildung, der Beweglichkeit, sowie die Wachstumskontrolle unter aeroben Bedingungen. Katalasebildung wurde durch Einreiben einer Kolonie in 3 % Wasserstoffperoxyd-Lösung geprüft. Bei Zweifel wurde die Gasblasenbildung unter dem Plattenmikroskop kontrolliert. Die Gasbildung aus Zucker wurde am Verhalten einer 1 %igen Glukose-Bouillon mit einem Gärröhrchen nach 3- bis 4-tägiger Bebrütung bei 37°C abgelesen.

Die Fähigkeit zum aeroben Wachstum wurde durch Übertragen von Keimmaterial auf HACKENTHAL-BIERKOWSKI-Agar überprüft (Bebrütungszeit: 48 Std. bei 37°C). An dem Verhalten eines weiter beimpften polytropen Nährbodens wurden Beweglichkeit, Gelatinase- und Nitratasebildung abgelesen (Bebrütungszeit: 3 - 5 Tage bei 37°C). Dieser Nährboden wurde sofort nach Entnahme aus dem Kühlschrank beimpft, da er bei 24°C flüssig wird. Nach der angegebenen Bebrütungszeit wurde das Substrat in den Kühlschrank zurückgestellt, um dann Beweglichkeit (Wachstumlänge des Impfkanals bzw. diffuse Trübung des gesamten Nährmediums), Gelatinasebildung (Verflüssigung hauptsächlich in den oberen Partien des Nährmediums) und Nitratreduktion (Überschichten des Nährbodens mit GRIES-ILOSVAY-Reagenz, wobei in Anwesenheit von Nitrit ein kirschroter Azofarbstoff gebildet wird) abzulesen.

Dem flüssigen Nährmedium und dem polytropen Nährboden wurden zur Förderung der Anaerobiose etwa 0,2 bis 0,3 ml (entspricht 10 bis 15 mg) Ascorbinsäure als reduzierende Substanz zugesetzt. Die Glukose-Bouillon wurde zusätzlich mit flüssigem Paraffin überschichtet.

Abgeimpfte Keime wurden dann als Angehörige der Bifidus-Gruppe angesehen, wenn im mikroskopischen Präparat pleomorphe grampositive Stäbchenbakterien vorlagen, die aerob nicht wuchsen und unbeweglich waren. Weitere Voraussetzungen: keine Gelatinase- und Katalase-Bildung, keine Gasproduktion und keine Nitratreduktion.

Die aeroben Stuhlkeime wurden auf den auf Seite 41 aufgeführten Nährböden gezüchtet (Formel I, 4 im Anhang). Die Bebrütungszeit betrug 24 Std. bei 37°C. Escherichia coli und andere coliforme Keime, Staphylokokken, Faecalstreptokokken, Proteus und Sproßpilze wurden quantitativ durch Auszählen der typischen Kolonien erfaßt. Beim Vorliegen von Staphylokokken wurden lediglich die Plasmakoagulase-bildenden Stämme berücksichtigt. Sproßpilze wurden auf dem Glukose-Pepton-Agar nach SABOURAUD gezüchtet. Sie benötigten eine Bebrütungsdauer von 72 bis 96 Std. bei 37°C.

4. Keimzählung

Die Koloniezählung zur Abschätzung der Keimzahl erfolgte nach den für jede Keimart angegebenen Bebrütungszeiten bei 37°C.

Die Zählung wurde mit einem Bakterien-Kolonien-Zählgerät (Placont(R) - Hersteller: Boskamp Gerätebau K.G., Hersel/Bonn) vorgenommen. Nach Möglichkeit wurden die Platten von den Verdünnungsstufen ausgezählt, die besonders leicht auswertbare Kolonienzahlen aufwiesen. Die Gesamtkolonienzahl dieser Platten liegt dabei zwischen 10 und 100 (BRAUN 1959). Stets wurden auch die Kolonien der einzelnen Keimarten aus der nächst höheren und nächst tieferen Verdünnungsstufe mit ausgezählt. Von jeweils drei ausgezählten Verdünnungsstufen wurden die Mittelwerte pro Keimart bestimmt und miteinander verglichen und die annähernde Keimmenge je Gramm Faeces errechnet.

C) ERGEBNISSE

1. Allgemeine Beobachtungen

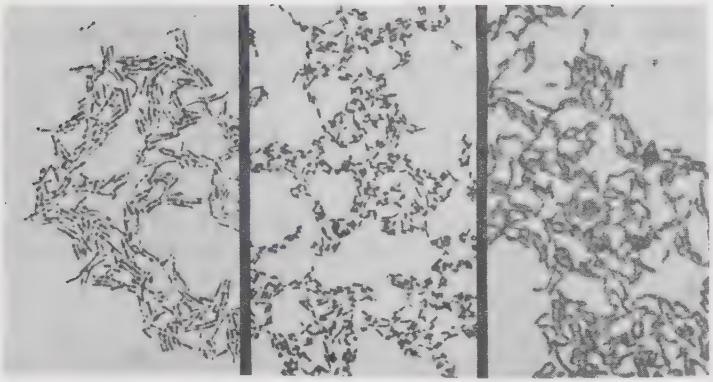
Von allen Säuglingen konnten aromatisch riechende Stühle von goldgelber Farbe und meist pastenförmiger Konsistenz gewonnen und verarbeitet werden. Vereinzelt waren die untersuchten Stühle fest, niemals waren sie - ausgenommen nach Lactulose-Gabe (s.u.) - schlecht gebunden, von grünlicher Farbe, mit Schleimpartikeln versehen oder von fauligem Geruch.

Nach Aussagen des Pflegepersonals, welches die neun Probanden betreute, wurden die Kostformen "Nahrung A", "Nahrung B" und die "Eiweißmilch" von den Säuglingen gut vertragen. Jedoch war eine unter "Alpenmilch^{R}" mit Lactulose-Zusatz aufgetretene laxierende Wirkung bei drei Säuglingen recht stark, so daß der Lactulose-Sirup für zwei Tage abgesetzt werden mußte.

2. Mikroskopische Befunde

Die Gram-Präparate, die von den Stuhlverdünnungen 1 : 100 angelegt worden waren, ließen merkliche Unterschiede kaum erkennen. Bei allen vier Kostformen fand sich ein vielgestaltiges Bild mit Vorherrschen der grampositiven Elemente: reichlich grampositive Stäbchen von verschiedener Länge und Dicke, teils sehr pleomorph, teils gerade, mit betonten Polenden, keulenförmig, granuliert oder in abgerundeten Formen ("Blähformen"), ferner große ovale Kokken. Gramnegative Stäbchen waren fast immer vorhanden, wenn auch in sehr viel geringerer Anzahl. (siehe Foto 1 und Foto 2).

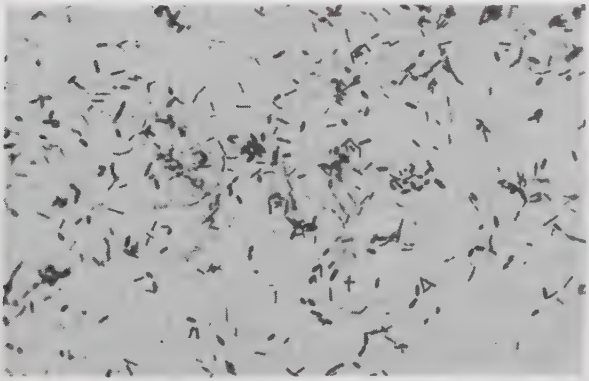
FOTO 1



Ausstriche von verschiedenen Bifidusbakterien - Kolonien, gefärbt nach GRAM.

Aufn.: 1000 : 1
nachvergrössert: 4 x

FOTO 2



Ausstriche einer Stuhlsuspension (1 : 100) nach GRAM gefärbt:

Dunkle ovoide Keimformen: Streptokokken.

Dunkle stäbchenförmige Keime: grampositive Stäbchen.

Helle stäbchenförmige Keime (sehr vereinzelt) = gramnegative Stäbchen.

Aufn.: 1000 : 1
nachvergrössert: 4 x

3. Kulturelle Befunde

Die von den beiden Versuchsgruppen kulturell ermittelten Daten über die Keimzahlen sind in den Tabellen 2 - 4 zusammengestellt.

Tabelle 2: log der Keimzahlen bei 2 Probanden mit gleichen Kostformen

Proband	Keimarten	Stuhlkontrollen unter "Nahrung A"									
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
Säugling C	Bifidus-bakterien	8,68	9,00	9,85	9,88	9,34	9,70	10,00	9,80	9,67	8,94
	Coli-bakterien	8,28	9,26	8,85	8,99	8,71	8,51	8,30	8,54	8,36	8,18
	Strepto-kokken	8,50	8,70	8,48	9,11	8,85	8,85	8,34	9,15	9,15	8,67
	Proteus-bakterien	5,00									
Säugling D	Bifidus-bakterien	$<$6,00	$<$6,00	$<$6,00	$<$6,00	8,30	8,18	8,20	10,34	8,48	$<$6,00
	Coli-bakterien	8,69	8,43	8,15	8,88	8,52	8,91	9,23	8,59	9,45	8,61
	Strepto-kokken		9,58	9,28	9,56	9,85	9,72	9,94	9,66	9,20	9,28
	Proteus-bakterien										

Tabelle 3: log der Keimzahlen bei 3 Säuglingen unter verschiedener Kostform

Proband	Keimarten	Stuhlkontrollen unter Nahrung									
		(A)		(B)						(A)	
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
Säugling A	Bifidus-bakterien	8,64	8,11	8,28	8,56	9,23	8,78	7,95	8,20	9,66	8,90
	Coli-bakterien	9,45	8,56	8,73	8,30	8,18	7,34	8,45	8,86	8,76	8,42
	Strepto-kokken	9,00	7,74	8,00	8,63		7,98	7,56	8,71	8,96	8,78
	Proteus-bakterien		5,00								
Säugling B	Bifidus-bakterien	9,30	8,54	9,43	9,63	9,52	8,70	8,15	<6,0	9,18	8,88
	Coli-bakterien	8,62	8,62	9,00	9,81	10,20	8,94	7,85	8,23	9,00	9,08
	Strepto-kokken	9,00	9,20	9,70	9,04	10,32	9,34	8,40	8,76	9,00	9,00
	Proteus-bakterien								6,00	6,00	
Säugling E	Bifidus-bakterien	7,95	9,58	9,51	8,49	9,56	9,62	9,15	9,65	9,54	9,66
	Coli-bakterien	9,00	9,36	9,43	8,81	8,08	7,49	8,81	9,45	8,92	8,72
	Strepto-kokken	9,00	8,57	9,86	8,93	9,70	9,15	8,81	9,84	9,18	9,43
	Proteus-bakterien						5,0				

Tabelle 4: log der Keimzahlen bei 4 Probanden unter 3 verschiedenen Kostformen

Proband	Keimarten	Stuhlkontrolle unter							
		Eiweiß-Milch		Nahrung A/B		2/3-Milch mit Lactulose-Zusatz		Eiweiß-Milch	
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Säugling F	Bifidusbakterien	9,08	9,00	9,95	9,98	10,20	7,60	10,00	9,49
	Colibakterien	9,18	8,85	8,48	8,30	9,43	8,62	8,89	8,74
	Streptokokken	8,28	9,26	8,42	8,82	9,08	8,18	9,26	8,83
	Proteusbakterien	7,00						5,0	5,0
Säugling G	Bifidusbakterien	<6,00	<6,00	8,73	8,72	10,20	8,53	8,54	9,20
	Colibakterien	8,90	9,62	8,82	9,23	9,18	8,49	8,87	8,70
	Streptokokken	8,71	8,18	8,91	9,00	8,58	7,90	8,80	9,77
	Proteusbakterien	6,0	6,0		7,0			5,00	6,00
Säugling H	Bifidusbakterien	8,40	9,08	9,76	9,58	10,04	10,00	10,00	9,54
	Colibakterien	9,48	9,60	9,08	9,15	9,85	9,26	8,58	9,00
	Streptokokken	8,70	9,40	9,70	9,72	9,11	9,93	9,58	9,45
	Proteusbakterien	8,00	8,00		8,00			9,00	8,00
Säugling J	Bifidusbakterien	8,60	9,52	9,72	10,00	10,08	8,15	9,66	9,54
	Colibakterien	9,52	8,85	8,51	9,04	9,88	8,30	8,62	8,93
	Streptokokken	8,32	9,51		9,96	8,85	7,90	9,51	9,00
	Proteusbakterien							8,00	8,00

Während des ersten Versuches wurden in 42 Stühlen regelmäßig etwa $n \times 10^7$ bis $n \times 10^9$ Bifiduskeime pro Gramm Faeces gezüchtet, bei Säugling C und D lag der Anteil einmal bei $n \times 10^{10}$. In fünf Proben bei Säugling D und in einer Stuhlanalyse bei Säugling B war der Bifidusanteil kleiner als $n \times 10^6$. Die Zahlen von Escherichia coli, anderen coliformen Keimen und faekalen Streptokokken lagen ebenfalls im Bereich von $n \times 10^7$ bis $n \times 10^9$. Beim Säugling B stiegen in der 5. Stuhlkontrolle sowohl der Coli- als auch der Streptokokkenanteil bis auf $n \times 10^{10}$.

(siehe Abbildung 1-5).

Abb 1 : Keimrelationen zwischen Bifidusbakterien, E.coli und coliformen Keimen und Streptokokken in Stuhlproben nach bestimmten Ernährungen.
Proband: Säugling A

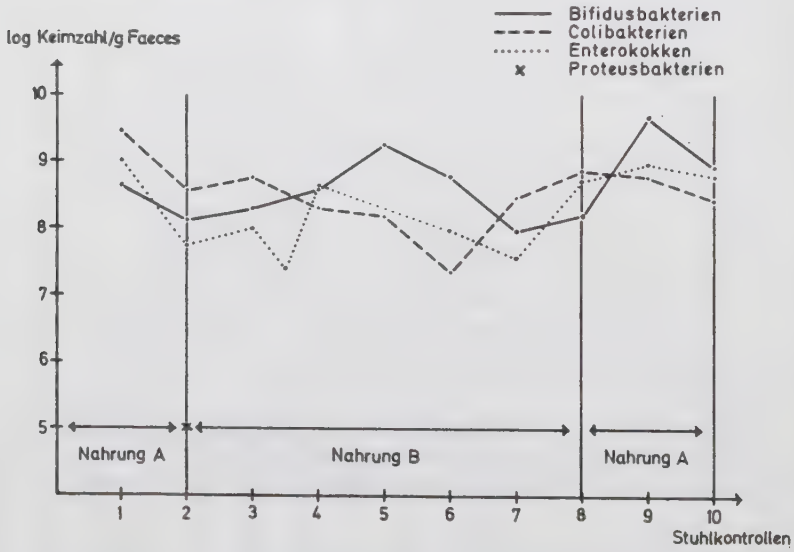


Abb 2 : Keimrelationen zwischen Bifidusbakterien, E.coli und coliformen Keimen und Streptokokken in Stuhlproben nach bestimmten Ernährungen.
Proband: Säugling B

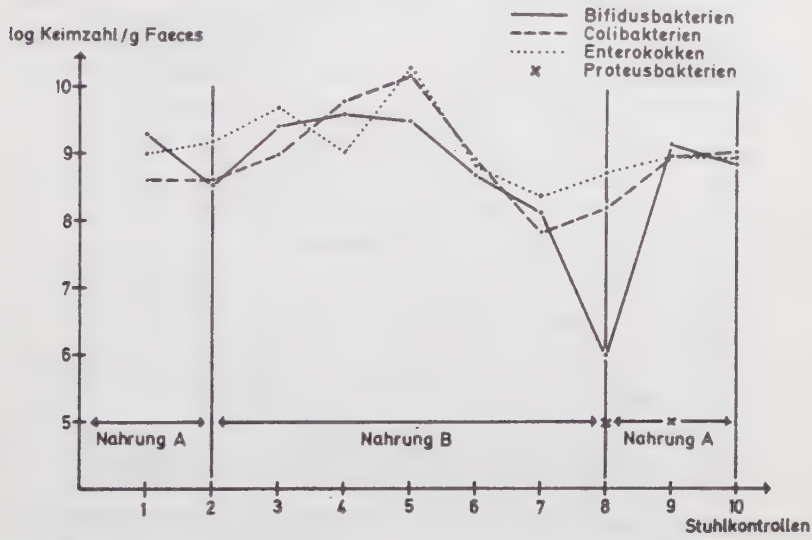


Abb 3 : Keimrelationen zwischen Bifidusbakterien, E.coli und coliformen Keimen und Streptokokken in Stuhlproben nach bestimmten Ernährungen.
Proband: Säugling C

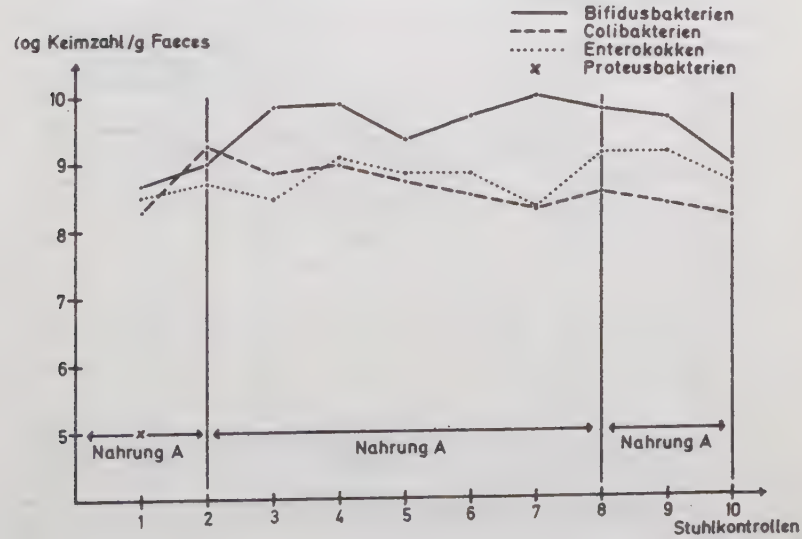


Abb 4 : Keimrelationen zwischen Bifidusbakterien, E.coli und coliformen Keimen und Streptokokken in Stuhlproben nach bestimmten Ernährungen.
Proband: Säugling D

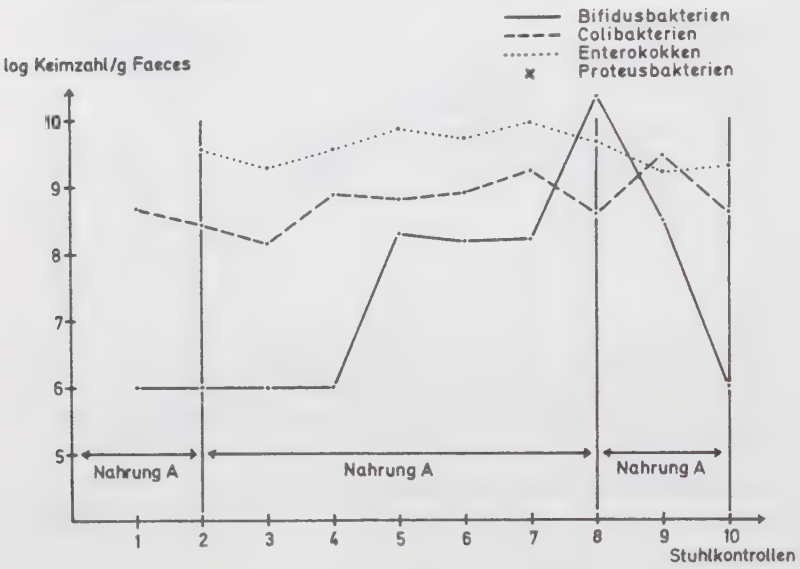
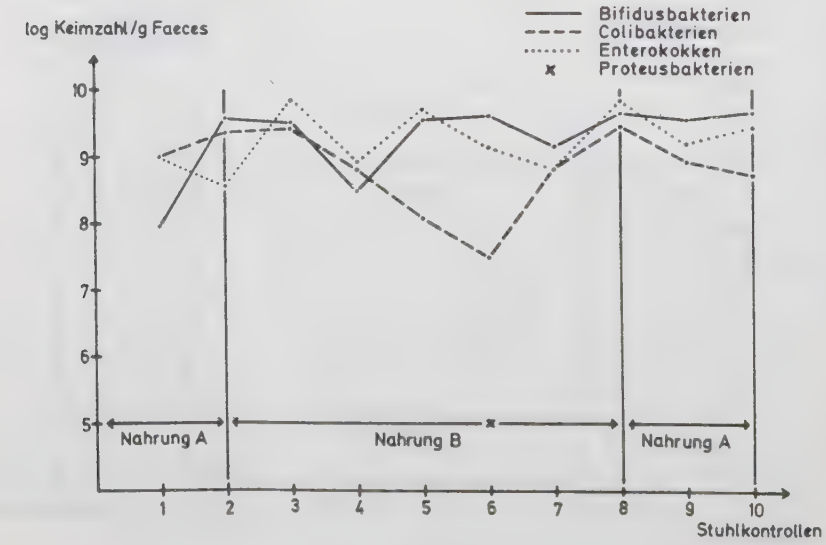


Abb 5 : Keimrelationen zwischen Bifidusbakterien, E.coli und coliformen Keimen und Streptokokken in Stuhlproben nach bestimmten Ernährungen.
Proband: Säugling E



Im zweiten Versuch unter der "Eiweißmilch"-Ernährung traten die Bifiduskeime in gleichen Mengen wie im ersten Versuch auf. Beim Säugling G war der Anteil kleiner als n x 10^6. In der zweiten Woche unter Nahrung A bzw. B wurde im Vergleich zur "Eiweißmilch" ein geringer Bifidusanstieg beobachtet. Hier war der Unterschied bei Säugling H und J kleiner als eine Zehnerpotenz (also ohne Bedeutung), bei Säugling F eine Zehnerpotenz und bei Säugling G mehr als zwei Zehnerpotenzen.

Unter Alpenmilch$^{(R)}$ mit Lactulose stieg bei drei Säuglingen der Bifidusanteil weiter an, so daß im Vergleich zur "Eiweißmilch" der Unterschied der Bifiduskeimzahlen bei Säugling J weniger als eine Zehnerpotenz, bei Säugling F und H eine und bei Säugling G etwa vier Zehnerpotenzen betrug. Bei Säugling F, G und J mußte nach dreieinhalb Tagen wegen des auftretenden Durchfalles nach Gaben von Lactulose-Sirup, dieser bifidogene Zucker für zwei Tage abgesetzt werden.

(siehe Abbildung 6-9).

Abb 6 : Keimrelationen zwischen Bifidusbakterien, E.coli und coliformen Keimen und Streptokokken in Stuhlproben nach bestimmten Ernährungen.
Proband: Säugling F

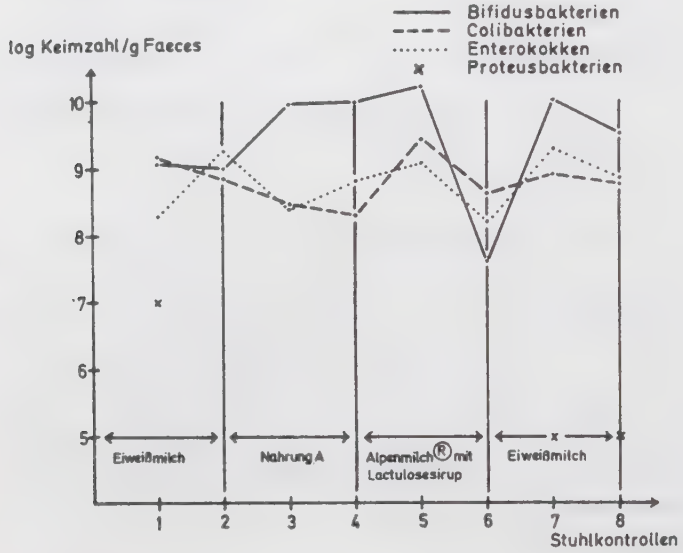


Abb 7 : Keimrelationen zwischen Bifidusbakterien, E.coli und coliformen Keimen und Streptokokken in Stuhlproben nach bestimmten Ernährungen.
Proband: Säugling G

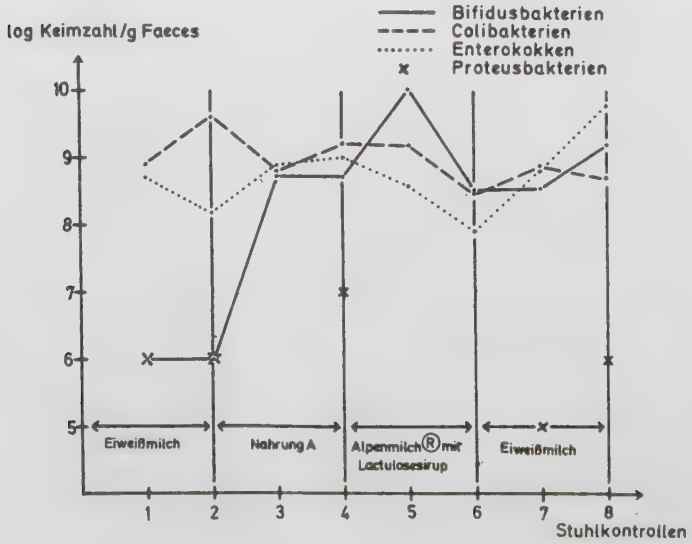


Abb 8 Keimrelationen zwischen Bifidusbakterien, E.coli und coliformen Keimen und Streptokokken in Stuhlproben nach bestimmten Ernahrungen.
Proband: Säugling J

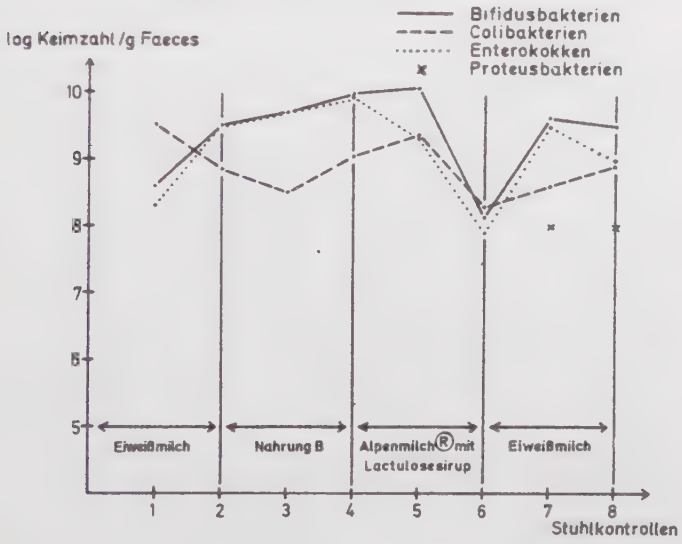
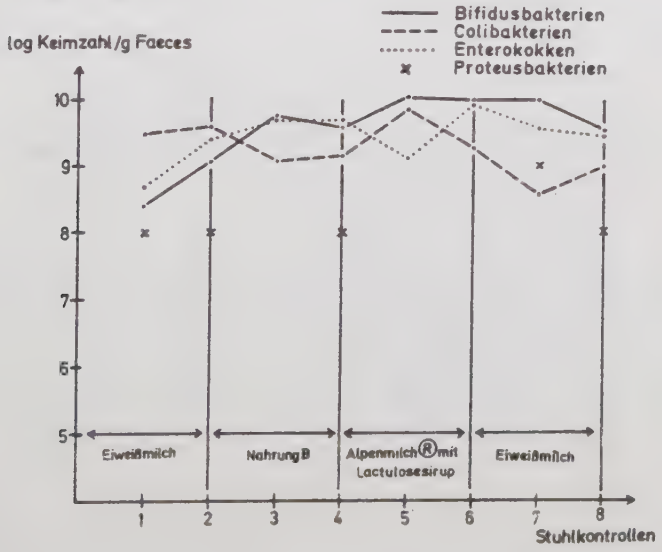


Abb 9 : Keimrelationen zwischen Bifidusbakterien, E.coli und coliformen Keimen und Streptokokken in Stuhlproben nach bestimmten Ernährungen.
Proband: Säugling H



Aus Tabelle 5 ist zu ersehen, zu welchen Zeiten bei den einzelnen Probanden Lactulose als Nahrungszusatz verabreicht wurde und welche Bifiduskeimzahlen während des zweiten Versuches ermittelt wurden.

	1. Woche	2. Woche	3. Woche								4. Woche
Proband	Eiweiß-Milch	Nahrung A/B	2/3 Milch mit Laktulose-Zusatz								Eiweiß-Milch
			Fr.	Sa.	So.	Mo.	Di.	Mi.	Do.	Fr.	Sa.	
Säugling H	3×10^8 1×10^9	B: 6×10^9 4×10^9					1×10^{10}				1×10^{10}	1×10^{10} 4×10^9
			LACTULOSE					LACTULOSE				
Säugling J	4×10^8 3×10^9	B: 5×10^9 1×10^{10}					1×10^{10}					5×10^9 4×10^9
Säugling F	1×10^9 1×10^9	A: 9×10^9 1×10^{10}					2×10^{10}					1×10^{10} 3×10^9
Säugling G	10^6 10^6	A: 5×10^8 5×10^8					2×10^{10}					4×10^8 2×10^9

Tabelle 5 : Einfluß von Lactulose-Gaben auf die Bifidus-Keimzahlen
bei 4 Probanden der Versuchsreihe II

Säugling H wurde 8 Tage lang durchgehend mit 2/3 Milch mit Lactulosezusatz ernährt.
Säugling J, F und G erhielten nur drei Tage die mit Lactulose angereicherte Kost. Die erste Stuhlkontrolle in der Lactuloseperiode wurde etwa 12 Stunden nach Absetzen der Lactulose durchgeführt. Bei allen drei Säuglingen lag der Bifidusanteil im Bereich von $n \times 10^{10}$. Nach dem lactulosefreien Intervall von zwei Tagen wurde die Substanz erneut der Nahrung zugesetzt und nach weiteren eineinhalb Tagen erfolgte die zweite Stuhlkontrolle in der Lactuloseperiode. Die erzielten Bifiduskeimzahlen lagen jedoch bei Säugling J und G zwei und bei Säugling F drei Zehnerpotenzen unter den Vergleichswerten der ersten Stuhlkontrolle.

Die Zahlen für E.coli, andere coliforme Keime und fäkale Strepotkokken änderten sich weder unter "Eiweißmilch", noch unter "Nahrung A" bzw. "B" oder Alpenmilch(R) mit Lactulose. Die Zahlen lagen für diese Keimarten zwischen $n \times 10^{7}$ bis $n \times 10^{9}$ Bakterien je ein Gramm Faeces.

Pilze und Staphylokokken traten nicht regelmäßig und nur in geringen Mengen auf. Sie wurden durch die verschiedenen Kostformen nicht reproduzierbar verändert.

Die nach HAENEL (1958) nie fehlenden Proteus-Keime waren während dieser Versuche nicht regelmäßig vorhanden und wurden aus nur 21 von insgesamt 82 Stühlen gezüchtet. Bei 58 Faecesproben unter "Nahrung A" bzw. "B" war nur achtmal ein Proteuswachstum festzustellen; dagegen waren diese Keime in den insgesamt 16 Stuhlanalysen unter "Eiweißmilch" dreizehnmal zu finden. In den 8 Stuhlproben während der Lactulosegabe wurde niemals Proteus nachgewiesen.

Wegen der geringen Probandenzahl und der verhältnismäßig wenigen Faecesproben unter den gleichen Versuchsbedingungen wurde von einer statistischen Auswertung der Ergebnisse Abstand genommen.

D) DISKUSSION

Die künstliche Säuglingsernährung gewinnt immer mehr an Bedeutung, da die Stillfähigkeit und Stillbereitschaft der Mütter ständig zurückgeht. Dabei besteht Einigkeit über die Notwendigkeit, die physiologische Darmflora beim so ernährten Säugling durch eine entsprechende Zusammensetzung der Kost zu gewährleisten.

Die Anwesenheit der anaeroben Laktobazillen im unteren Dünndarm in ausreichender Menge sichert eine sog. "Eubiose" der Darmflora. Diese Keime verhindern anscheinend durch ihre Säurebildung das Aufsteigen der Proteolyten aus dem Dickdarm. Bei verschiedenen Darmerkrankungen tritt eine Unregelmäßigkeit in der Darmtätigkeit auf, und die damit verbundene pH-Verschiebung läßt die Fäulniskeime aufsteigen und die Milchsäurebakterien zurücktreten (KANDLER 1969). Nach neueren Erkenntnissen ist die Wirkung einer optimal zusammengesetzten Nahrung für das Gedeihen des künstlich ernährten Kindes an das Vorhandensein der Milchsäure gebunden. Diese unterstützt die Magensäure. Die in der Kost enthaltene Lactose steht den Bifidusbakterien als Nährsubstrat zur Verfügung (RETTGER 1935) und fördert somit deren Vermehrung. Eine optimale und bifidogene Nahrung des Säuglings müßte imstande sein, ein physiologisches Verhältnis zwischen Bifidus- und den übrigen Darmkeimen zu bewirken und weitgehend die schädlichen Darmkeime auszuschalten. DEHNERT (1961) hebt hierzu hervor, daß in diesem Vorgang die biochemische Leistung der einzelnen Keimspezies nicht die entscheidende Rolle spielt. Vielmehr steht die Ausschaltung der schädlichen Darmkeime, vor allem der gramnegativen Anaerobier, im Vordergrund der Schutzwirkung.

Aus technischen Gründen wurde im Rahmen dieser Arbeit davon Abstand genommen, die gramnegativen, sporenlosen Anaerobier, oft auch als Proteolyten (pro parte, denn es gibt auch andere gramnegative und aerobe grampositive Proteolyten) einzubeziehen. Damit hätte man zwar einen

empfindlichen Gradmesser gehabt, inwieweit die Darmflora des künstlich mit bifidogener Kost ernährten Säuglings auch kulturell von der Erwachsenenflora verschieden ist; doch schien dieser nur mit großem Aufwand zu realisierende Teil möglicher Stuhlanalysen entbehrlich, weil das mikroskopische Bild der nach GRAM gefärbten Stuhlausstriche und das kulturelle Untersuchungsergebnis stets eine prinzipielle Übereinstimmung im Sinne des Vorhandenseins einer ausgeprägten grampositiven Stäbchenflora aufwies. Wie schon oben erwähnt, ist ein geringer Anteil oder das Fehlen der gramnegativen, strikt anaeroben Keime das eigentliche Unterscheidungsmerkmal zur Erwachsenenflora (HAENEL 1957b, SEELIGER 1957, GUTHOF 1957, KIENITZ 1965 u.a.).

In der vorliegenden Arbeit wurden bewußt lediglich die Anteile der anaeroben Milchsäurestäbchen, der faekalen Streptokokken und der gramnegativen aeroben Stäbchenbakterien bestimmt.

Die Ergebnisse der quantitativen Keimzahlbestimmungen werden bekanntlich von der Perfektion der anaeroben Züchtung, aber auch der Technik der Stuhlverarbeitung und der Auswahl der Nährböden entscheidend beeinflußt. Zur Erzielung einer optimalen Methodik der anaeroben Bifidus-Züchtung wurden daher zunächst Faeces von muttermilchernährten Säuglingen aus der Universitäts-Frauenklinik Würzburg (Direktor: Prof. Dr.med. H.SCHWALM) analysiert, anschließend noch weitere 50 Stuhlproben künstlich ernährter Kinder aus einem Würzburger Säuglingsheim.

Die Bifidusbakterien wurden auf drei verschiedenen Nährböden gezüchtet. Dabei ließ sich die Erfahrung von REUTER (pers. Mitteilung) bestätigen, daß die Bifiduskeime auf dem sogenannten Laktobazillen-Agar (Formel I,2, b im Anhang) morphologisch schwer von Begleitkeimen (Coli-Bakterien, Staphylokokken und faekalen Streptokokken) zu trennen sind, und daß sich der Sorbinsäurezusatz, pH 5 (Formel I, 2, c im Anhang) zur Ausschaltung der katalasepositiven Flora auch auf die Bifiduskeime hemmend

auswirkt, und zwar sowohl in der Zahl als auch der Größe der einzelnen Kolonien. Diese beiden Spezialnährböden dienten somit letztlich nur dazu, alle Laktobazillen im weiteren Sinne (taxonomisch ist Lactobacillus von Bifidobacterium zu trennen) anzuzüchten und durch die Differenz der Züchtungsergebnisse mittels Schafblut-Agar nach HACKENTHAL-BIERKOWSKI den eigentlichen Bifidus-Anteil besser zu erkennen. Außerdem kontrollierten sich die Substrate in gewisser Weise gegenseitig.

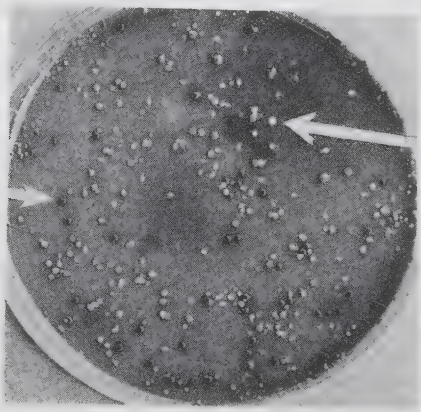
Als besonders geeignet zur Anzüchtung und quantitativen Erfassung der Bifiduskeime erwies sich der Schafblut-Agar nach HACKENTAHL-BIERKOWSKI. Er ermöglicht eine schnelle Orientierung über die Art der gewachsenen Keime, da der einprozentige Wasserblauindikator mit dem Blutzusatz eine verschiedene Färbung der angegangenen Kolonien bewirkt. Der Zusatz von Schafblut ist nur zur unterschiedlichen Farbreaktion nötig, da sich Bifiduskolonien auch ohne Blut auf diesem Nährmedium entwickeln (LERCHE und REUTER 1961).

Die streng anaerob wachsenden Milchsäurestäbchen (Bifidobacterium) wuchsen in den eingangs beschriebenen Farbtönen von tiefbraun über hellbraun bis graugrün. LERCHE und REUTER (1961) haben zur Klärung dieser Farbreaktion Säuren und Alkalien auf den Schafblut-Agar getropft und bei den verschiedenen Säuren (Essigsäure, Propionsäure und Milchsäure) unterschiedliche Färbungen festgestellt. Wurde das so behandelte Nährmedium bebrütet, stellte sich bei allen drei Säuren eine Braunfärbung ein, die aber bei Milchsäurezusatz am intensivsten war. Bekanntlich sind Bifiduskeime und Streptokokken bevorzugt in der Lage, Milchsäure aus Zucker zu bilden. Colibakterien haben jedoch nur eine verhältnismäßig geringe Fähigkeit, diese Säure zu produzieren; hier steht die Essigsäurebildung im Vordergrund (HOFFMANN und Mitarb. 1964). Bei ausreichendem Wachstum von Bifiduskeimen auf dem Schafblut-Agar und somit genügender Milchsäureproduktion kommt es zu den typischen Brauntönen der Bifiduskolonien. Liegen die Bifiduskolonien (z.B. in höheren Stuhlverdünnungsstufen) nur vereinzelt vor, reicht die Milchsäurebildung

zur Braunfärbung nicht aus; die Kolonien sind dann blau bis blau-grün gefärbt.

Da die Weiterverarbeitung der Bifiduskeime sehr schnell vonstatten gehen muß, bietet dieser Nährboden wegen seiner guten Darstellung den Bifiduskolonien eine wesentliche Hilfe (siehe Foto 3). Dadurch ist die schnelle Abimpfung zahlreicher Kolonien ohne vorherige zeitraubende Kontrolle von Grampräparaten möglich und eine hohe Anwachsrate der gegen Sauerstoff hoch empfindlichen Bifidusbakterien in der Subkultur gewährleistet. Die charakteristische Färbung der Kolonien kommt aber erst dann zum Vorschein, wenn der pH-Wert des Nährbodens exakt bei jeweils optimaler Temperatur ($70^{\circ}C$ = 6,6 ; $50^{\circ}C$ = 6,8) mit einem Ionometer eingestellt wird. Dies ist dadurch zu erklären, daß die spezifischen Enzyme, die bei der Milchsäuregärung nötig sind, für ihre Aktivität eine bestimmte Temperatur und Wasserstoffionenkonzentration benötigen, um einen geordneten Ablauf der Stoffumsetzungen zu gewährleisten. Das Ionometer (Fa. L. Pusl, München) muß übrigens von Zeit zu Zeit bei einer der angegebenen Temperaturen geeicht werden.

FOTO 3



Koloniewachstum vom Ausstrich einer Stuhlprobe (0,1 ml in der Verdünnung von 1:100. 000. 000) nach 72 Std. bei $37^{\circ}C$. auf HACKENTHAL BIERKOWSKI - Agar.

Typisches Wachstum und quantitative Erfassung der Bifiduskolonien waren nur dann gewährleistet, wenn die Bebrütungszeit mindestens 72 Std. dauerte. Dieser Hinweis scheint vor allem deshalb nötig, weil gelegentlich Befunde anhand wesentlich kürzerer Bebrütungszeiten zur Beurteilung der "Bifidogenität" einer Milchkost mitgeteilt wurden. Sicher ist auch die angewandte Bebrütungsdauer von 72 Stunden noch nicht optimal für eine absolute quantitative Ausbeute. Doch stellt sie, wie sich in den Vorversuchen gezeigt hatte, einen brauchbaren Kompromiß zwischen den Erfordernissen der praktischen Abwicklung der Versuche und dem denkbaren Höchstmaß dar. Für die laufenden Untersuchungen erwies es sich als zweckmäßig, 0,1 ml von den Verdünnungsstufen 10^{-5} bis 10^{-10} auszuspateln. Zur Auswertung wurden fast ausschließlich die bewachsenen Nährböden von der Stuhlverdünnung 10^{-6} und 10^{-7} herangezogen, da die Bifiduskeime hier stets in ausreichender Zahl vorhanden und auch koloniemorphologisch von den anderen Arten relativ gut abzugrenzen waren. Auf den Medien mit der Verdünnung 10^{-5} war dagegen in keinem Fall eine Unterscheidung zwischen Bifidus- und Begleitkeimen möglich, da die Kolonien zu eng standen und Unterschiede nicht hinreichend deutlich waren.

Das quantitative Züchtungsergebnis ist aber auch von der Stuhlaufbereitung abhängig. Korrekte Zahlenwerte werden im Kulturverfahren erst erzielt, wenn in den Stuhlaufschwemmungen die Keime möglichst einzeln vorliegen. Die Bakterien neigen jedoch zur Konglomeratbildung, so daß eine einzelne Kolonie häufig von mehreren Keimen (manchmal sogar verschiedener Arten) gebildet wird und dadurch die kulturell gefundene Keimzahl niedriger erscheint als der Wirklichkeit entspricht (DEHNERT 1964, SEELIGER u. WERNER 1966). Sprünge in den Keimzahlen sind bei dem unterschiedlichen Anwachsen der Bifidusbakterien in den einzelnen Stuhlverdünnungen häufig. DEHNERT (1964) erklärt dies damit, daß einzeln liegende Keime, obwohl noch vermehrungsfähig in höheren Verdünnungsstufen manchmal keine Symbionten mehr finden, die zum Anwachsen offenbar benötigt werden.

Auf den aerob bebrüteten Substraten wurde dagegen immer ein gleichmäßiges und quantitativ der Verdünnungsstufe weitgehend entsprechendes Wachstum beobachtet.

Die sehr zarten, schlanken, geraden oder leicht gebogenen grampositiven Stäbchen, die in den Voruntersuchungen im bakterioskopischen Stuhlbild des Brustkindes fast ausschließlich beobachtet wurden, fanden sich bei mit den oben erwähnten künstlichen Nahrungen gefütterten Säuglingen nur vereinzelt. Hier trat vielmehr konstant eine vielfältige Stuhlflora aus grampositiven Stäbchen von unterschiedlicher Gestalt, grampositiven Kokken und gramnegativen Stäbchen auf. SCHLOSSMANN und MORO (1904) fanden bei Verfütterung von Muttermilch, unabhängig vom Lebensalter, eine einheitliche Bifidusflora aus zarten, schlanken, unverzweigten grampositiven Stäbchen. Nach BRAUN (1959) besteht bei künstlich ernährten Säuglingen dagegen oft eine Mischflora mit Überwiegen der gramnegativen Stäbchen. PETUELY (1960), aber auch SEELIGER (1962) u.a. haben angesichts ähnlicher Befunde darauf hingewiesen, daß es sich bei den "gramnegativen" Stäbchen in solchen Fällen nicht selten doch um Lactobacillus- und Bifiduskeime handelt, die unter noch nicht völlig geklärten Bedingungen manchmal ihre Gramfestigkeit ganz oder teilweise einbüßen. Eine Diskrepanz zwischen dem mikroskopischen Stuhlbild und dem kulturellen Züchtungsergebnis läßt sich oft auch in dem Sinne feststellen, daß die reichlich im mikroskopischen Präparat gesichteten gramnegativen Stäbchen kulturell in nur geringem Maße in Erscheinung traten. Dabei handelt es sich nach BRAUN (1959) um abgestorbene Keime oder um gramnegative Stäbchen (Bacteroides), die auf den benutzten Nährböden nicht erfaßt würden. In den eigenen Untersuchungen wurden nun die aerob gezüchteten, stets reichlich vorhandenen gramnegativen Stäbchen im mikroskopischen Präparat viel seltener gefunden. PETUELY und LINDNER (1960) begründen dieses Phänomen folgendermaßen: Wird ein Stuhlausstrich in der üblichen Weise nach GRAM gefärbt, sollen 50 bis 80 % der gramnegativen Faekalkeime abge-

schwemmt werden. Die Stuhlpräparate vermitteln deshalb eine falsche Relation der grampositiven zu den gramnegativen Keimarten. Bei Verwendung von Stuhlsuspensionen für das mikroskopische Präparat tritt der Verlust der gramnegativen Bakterien sogar in verstärktem Maße auf.

In 13 von insgesamt 20 Stuhlanalysen von unter gleichen Ernährungsbedingungen stehenden Säuglingen wurden $n \times 10^8$ - $n \times 10^9$ Bifiduskeime im Gramm Stuhl gezüchtet. Bei Säugling D lag der Bifidusanteil in 5 Stuhlproben unter 10^6; bei Säugling C und D stiegen die Keime in je einem Stuhl auf 10^{10}. Die Keimzahlen von E. coli, anderen coliformen Keimen und fäkalen Streptokokken lagen in ähnlichen Größenordnungen. Bei der zweiten Gruppe des ersten Versuches, deren Nahrung drei Wochen lang einen zusätzlich bifidogenen Wirkstoff enthielt, wurden Bifiduskeimzahlen vom $n \times 10^7$ bis $n \times 10^9$ pro Gramm Faeces erzielt. In den vorliegenden Ergebnissen ist keine wesentliche quantitative Verschiebung der Bifiduskeime festzustellen. FRISELL (1951) wies bei Flaschenkindern etwa $n \times 10^9$ Bifidusbakterien pro Gramm Faeces nach. Die Keimzahlen der anderen Bakterien standen in keiner festen Relation zu den Zahlen der anaeroben Milchsäurestäbchen; die Werte für "Coliforme" betrugen um 10^9 Keime pro Gramm Faeces. Nach HAENEL u. Mitarb. (1958) zeigt die Darmbesiedlung bei Übergang von Muttermilch auf künstliche Nahrung einen Wandel. Dabei erfahren die Bifiduszahlen zwar einen Rückgang, bleiben aber mit $n \times 10^9$ Keimen pro Gramm Stuhl noch dominierend. Auch die Colizahlen 10^9 sollen nicht verändert werden, während Enterokokken deutlich absinken. Nach den Ergebnissen von REUTER (1963) liegen die Zahlenwerte der Bifidusbakterien nach Verabrechung von Kuhmilch um 10^8 bis 10^9, der Streptokokken um 10^{10}, E. coli bei 10^9 und Proteus bei 10^8 pro Gramm Faeces.

Stets war auch beim Anstieg von Bifidus-Keimzahlen , unabhängig von der Größe des Coli-Anteils, ein Rückgang der coliformen Keime nie deutlich ausgeprägt. HAENEL (1957) und DEHNERT (1965) bezweifeln den immer

wieder behaupteten Antagonismus zwischen E. coli und Bifidusbakterien und heben stattdessen hervor, daß hier wohl eher an eine Symbiose zu denken sei. SEELIGER (1957) hatte schon vorher darauf aufmerksam gemacht, daß sich die enge Verflechtung zwischen E. coli und Bifidobacterium auf länger bebrüteten Nährböden oft in der Entwicklung von zahlreichen Bifidus-Tochterkolonien innerhalb einer E. coli-Mutterkolonie äußert. Auch MAYER (1956), HOFFMANN und SAUERBREI (1958) beschrieben ein typisches Ammenwachstum von Bifidusbakterien um Coli-Kolonien auf Blut-Agar. Diese Beobachtungen konnten in der vorliegenden Untersuchung bestätigt werden. KLUDAS (1959) erwähnt übrigens eine starke Förderung des Bifidus-Wachstums durch lebende Colikeime auf einfachen Nährböden.

Die eigenen Untersuchungen befaßten sich mit einem möglichen Einfluß bestimmter Nahrungsformen mit bifidogenen Zusätzen auf die Stuhlflora des Säuglings. HAENEL und Mitarbeiter (1957) meinen, daß immer und unabhängig von der Nahrung bei allen Altersklassen eine mit rund 90 % Anteil vorherrschende Bifidusflora bei etwa gleichbleibendem E. coli-Anteil besteht. Durch Fütterung der Testnahrung "B" war im Vergleich zur "Nahrung A" keine Erhöhung des Bifidus-Anteils im Stuhl zu erzielen. Die relative Konstanz der Coli- und Streptokokken-Anteile wurde in beiden Versuchsreihen nicht berührt. Interessanterweise zeigen die eigenen Befunde bei Verabreichung der sog. "Eiweißmilch" die geringsten Keimzahlen an Bifidusbakterien im Gegensatz zu den Stühlen nach Gaben von "Nahrung A" bzw. "Nahrung B" oder "Alpenmilch^{R}" mit Lactulose. OCKLITZ und SCHMIDT (1959) fanden in Stuhluntersuchungen von Säuglingen, die mit verschiedenen Milchmischungen ernährt wurden, die höchsten Bifiduswerte unter Muttermilch, die niedrigsten unter Eiweißmilch. Ein geringer Bifidus-Anstieg ergab sich nach Verabreichung von "Nahrung A" bzw. "B" im Vergleich zur "Eiweißmilch". Der von HAENEL (1958) geforderte Unterschied von mehr als einer Zehnerpotenz ist nur bei Säugling G unter der "Nahrung A", bezogen auf die Keimzahlen

in der Eiweißmilch-Periode, gegeben. Unter "Alpenmilch^{R}" mit Lactulose stiegen bei drei Säuglingen die Bifiduszahlen weiter an, so daß der Bifidus-Anteil im Vergleich zur "Eiweißmilch" bei Säugling J weniger als eine Zehnerpotenz, bei Säugling F und H eine Zehnerpotenz und bei Säugling G etwa vier Zehnerpotenzen zunahm .

Obwohl diese Befunde nur an vier Probanden erhoben wurden, dürften sie nicht zufällig, sondern Folge der bifidogenen Nahrungszusätze sein.

Möglicherweise hätten verlängerte Zeiträume, in denen die verschiedenen Kostformen gegeben worden wären, eindeutigere Änderungen der Keimzahlen ergeben. Bei drei dieser Kinder traten jedoch schon nach dreitägiger Verabreichung der Lactulose Durchfälle auf, so daß auf den Zusatz dieses bifidogenen Zuckers für 48 Std. verzichtet werden mußte. Die eigenen Beobachtungen stehen in Einklang mit denen anderer Untersucher, denn HAENEL (1958a), PETUELY (1957), sowie HOFFMANN und Mitarbeiter (1964) haben schon früher auf die stark laxierende Wirkung der Lactulose hingewiesen. Die erzielten Bifidus-Keimzahlen in der darauffolgenden Stuhlkontrolle lagen bei Säugling J und G zwei und bei Säugling F drei Zehnerpotenzen unter den Vergleichswerten der ersten Stuhlkontrolle in der Lactulose-Periode. Dieser Abfall der Bifidus-Werte ist unter den gegebenen Versuchsbedingungen nicht eindeutig zu klären. Ein Fehler in der Methodik der Anaerobiose dürfte bei diesen drei Probanden nicht für den starken Bifidusabfall verantwortlich sein, zumal die Anaerobiosetechnik ständig einer Kontrolle unterlag, einmal durch das beobachtete quantitative und qualitative Kolonienwachstum der einzelnen Platten einer Stuhlverdünnungsstufe und zum anderen durch den "Anaerobic Indicator"(vgl. Teil B/3). Andererseits hätten sich nicht erkannte Fehler bei der Technik der Stuhlverarbeitung und der Herstellung der Nährböden auch bei den vorherigen und nachfolgenden Züchtungsergebnissen der hier berücksichtigten Stuhlkeime bemerkbar machen müssen. Nur Säugling H konnte in der 3. Woche durchgehend mit Lactulose

ernährt werden. Wie aus Abb. 9 ersichtlich, kommt es im Gegensatz zu den anderen Probanden bei der 6. Stuhlkontrolle dieses Säuglings zu keinem Abfall der Bifiduszahlen; vielmenr bleiben diese Keime mit n x 10^{10} dominierend.

PETUELY (1957) hat in größeren Versuchsreihen Stuhlproben bei Lactuloseernährten analysiert und eine regelmäßige Zunahme der Bifidusflora verzeichnet. Mit täglichen Gaben von 1,2g/70 Cal konnte er innerhalb von 24-96 Stunden praktisch Reinkulturen von Bifidobacterium erzielen. Voraussetzung war allerdings ein Milchzucker/Eiweißquotient von 2,5. Nach Untersuchungen von HOFFMANN u. Mitarb. (1964) sind die Bifidusbakterien und fäkalen Streptokokken befähigt, die Lactulose (ß-Galactosidofructose, ein bisher in der Natur nicht gefundener, künstlicher Zucker) zu spalten und sie als Energiequelle für ihr Wachstum auszunutzen. Eine Zunahme der Streptokokken konnte in den vorliegenden Untersuchungen jedoch nicht nachgewiesen werden.

Die von HAENEL (1958a) beschriebene Beobachtung, daß Proteus unabhängig von verschiedenen Kostformen stets im Stuhl nachzuweisen ist, konnte in den mitgeteilten Versuchsreihen nicht in vollem Umfang bestätigt werden. Vielmehr wurden nur unter "Eiweißmilch" bei 80 % und unter "Nahrung A" bzw. "B" bei ca. 14 % der Stuhlanalysen Proteus-Bakterien gefunden. Unter "Alpenmilch"$^{(R)}$ mit Lactulosesirup wurde niemals ein Proteus-Wachstum beobachtet. Das Vorhandensein von Proteus im Stuhl ist besonders milieu-, ernährungs- und altersabhängig und wohl nur ausnahmsweise pathologisch, so daß diesen Befunden keine Relevanz zukommt.

Von den Pilzen wurde lediglich Candida albicans als Besiedler des Verdauungstraktes gezüchtet. In 18 von 82 Stuhlproben lagen die Keimzahlen dieser fakultativ pathogenen Hefeart zwischen n x 10^5 bis n x 10^6. In 37 Stuhlanalysen wurden Keimzahlen unter Werten von n x 10^5 ermittelt, wobei nach SEELIGER und GEDEK (1967) Werte bis 10^5 noch als im Be-

reich der "Norm" liegend anzusehen sind. Keimzahlen unter $n \times 10^2$ wurden in 27 Faecesproben gefunden. Immerhin deuten diese Befunde auf einen für Säuglingsstationen leider fast normalen, aber keinesfalls wünschenswerten Zustand hin, daß nämlich das Milieu, in denen die Probanden lebten, vom Soorpilz befallen war.

Die Darmflora unterliegt gewissen biologischen Gesetzmäßigkeiten, die auch durch extreme Kostformen und Nahrungszusätze nicht ohne weiteres aus dem Gleichgewicht zu bringen sind. Unter den gegebenen Versuchsbedingungen war nur ein geringer Einfluß der Nahrung auf die Darmflora von 9 Probanden erkennbar, möglicherweise weil die vorher verabreichte Kost A schon einen physiologisch optimalen Bifidusspiegel erzielt hatte oder die gesamte Umgebung dieser Kinder so stark mit Bifidusbakterien behaftet war, daß nennenswerte Verschiebungen nach oben nur unter ungewöhnlichen Bedingungen erfolgen konnten. Unter den vier Kostformen traten keine erheblichen Veränderungen in der Stuhlkeimbesiedlung auf. Die untersuchten Keimgruppen und ihre Relationen zueinander zeigten bei allen Probanden - unabhängig von der Kost - bemerkenswerte Einheitlichkeit und Konstanz. Die eindeutige bifidogene Wirkung der Lactulose, die bei allen vier Probanden in mindestens jeweils einer Stuhlkontrolle aufgezeigt werden konnte, ist wegen der erheblichen Nebenwirkungen dieses Zuckers vorerst nur von experimentellem Interesse. Offen muß allerdings bleiben, ob sich innerhalb des Typenspektrums der Bifidusbakterien unter dem Einfluß der Kostformen Verschiebungen vollzogen haben, die der Beobachtung entgehen, wenn nicht speziell danach gefahndet wird. DEHNERT (1957) unterscheidet ja nicht weniger als 6 serologisch und z.T. auch biochemisch verschiedene Typen innerhalb der Art B. bifidum und betont, daß die B. bifidum-Stämme des Brustkindes zu anderen Typen gehörten als die des Flaschenkindes und des Erwachsenen. Nur durch recht aufwendige Untersuchungen könnten diese Spezialfragen geklärt werden, wobei offenbleiben muß, ob sie tatsächlich

großes praktisches Interesse verdienen. Schließlich entwickelten sich auch in der mitgeteilten Studie alle mit Flaschennahrung aufgezogenen "Bifiduskinder" ausgezeichnet, so daß unterstellt werden darf, daß auch die in den Stühlen vorherrschenden Bifidusbakterien zum physiologischen Brustkindtyp gehörten.

Inwieweit hingegen ein reduzierender Einfluß der verabreichten Kostform auf die in dieser Untersuchung nicht erfaßten gramnegativen, anaeroben Stäbchen-Bakterien besteht, kann weniger entschieden beurteilt werden. Die Klärung dieser Frage wäre aber von großer Bedeutung, um aussagen zu können, in welchem Maße solche Nahrungen nicht nur in der Lage wären, die Muttermilch zu ersetzen, sondern - z.B. im Erwachsenenstuhl - auch die möglicherweise schädigenden Einflüsse der gramnegativen anaeroben Stuhlflora auf den Organismus in eine ausgewogenere Keimbesiedlung im Sinne einer Eubiose HAENEL's zu verändern.

E) ZUSAMMENFASSUNG

In vorliegender Arbeit wurden die Keimzahlen von Bifidusbakterien, E. coli und coliformen Keimen, Streptokokken, Proteusbakterien und Sproßpilzen pro Gramm Stuhl, unter besonderer Berücksichtigung der anaeroben Laktobazillen, bei Säuglingen zwischen 10 und 100 Tagen nach definierten Kostformen bestimmt.

Unter einer in der Zusammensetzung bekannten Milchkost mit und ohne bifidogenem Wirkstoff wurden in 42 von 50 Stuhlproben $n \times 10^7$ bis $n \times 10^9$ Bifiduskeime pro Gramm Faeces gezüchtet.

Die Bifidusflora war quantitativ durch extreme Kostformen geringgradig zu beeinflussen. Ein minimaler Anstieg der Bifidus-Keimzahl war unter der bekannten Milchkost mit und ohne bifidogenem Faktor zu beobachten, nachdem die Probanden zuvor mit einer "Eiweißmilch" ernährt worden waren. Unter einer 2/3 Milch mit Lactulose (Galactosidofructose) war ein weiterer Bifidusanstieg zu verzeichnen. Die hier berücksichtigten Keime (E. coli, andere coliforme Keime und Streptokokken) lagen in ähnlichen Größenordnungen. Pilze und Staphylokokken traten nicht regelmäßig und nur in geringen Mengen auf. Sie wurden durch die verschiedenen Kostformen nicht reproduzierbar verändert.

Die Befunde werden unter Berücksichtigung der Fehlermöglichkeiten bei der Technik der anaeroben Züchtung im Lichte der Literatur diskutiert.

F) ANHANG

I. Zusammenstellung der verwendeten Nährmedien

1. Verdünnungsmittel:

a) Phosphatpuffer-Lösung (4)

KH_2PO_4	4,5 g
Na_2HPO_4	6,0 g
Agar-Agar	1,0 g
Thioglykolsäure	0,3 - 0,4 ml
Aqua dest	ad 1000 ml

pH 6,8

b) NaCl-Pepton-Lösung (37)

Physiologische NaCl-Lösung (0,85 %) mit 0,1 % Pepton

pH 7,0

2. Anaerob bebrütete, feste Nährböden:

a) Hammelblut-Agar nach HACKENTHAL-BIERKOWSKI, modifiziert nach REUTER (36)

Fleischextrakt	10,0 g
Pepton aus Casein, tryptisch verdaut	10,0 g
NaCl	5,0 g
Agar-Agar	20,0 g
Aqua dest.	ad 1000 ml

60 min bei 110°C sterilisieren

Sterile Zugabe von:

Glucose-Lösung (50 %)	40 ml
Pepton-Lösung (50 %, je 1/2 Fleischpepton peptisch und tryptisch verdaut)	40 ml
Wasserblau-Lösung (1 %)	30 ml

pH 6,6 bei 70°C (mit 10 %iger Soda-Lösung eingestellt)

pH 6,8 bei 50°C

30 min bei 100°C sterilisieren und 7 % defibriniertes Hammelblut steril zusetzen.

b) Laktobazillen-Agar (+)

Caseinhydrolysat, tryptisch verdaut		10,0 g
Fleischextrakt		10,0 g
Hefeextrakt, pulv.		5,0 g
Glukose		20,0 g
Tween 80		1,0 g
Natriumazetat		5,0 g
Natriumzitrat		5,0 g
$MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$ (20 ml einer 1 %igen Lösung)		0,2 g
$MnSO_4 \cdot 4\ H_2O$ (5 ml einer 1%igen Lösung)		0,05 g
Agar-Agar		20,0 g
Aqua dest.	ad	1000 ml

pH 6,8 bei 50°C

30 min bei 110°C autoklavieren

c) Laktobazillen-Agar mit Sorbinsäure (39)

Zusammensetzung wie b); nach Auffüllung mit Aqua dest. 2 Std. bei 100°C sterilisieren.

Zusatz von 0,4 g Sorbinsäure in leicht alkalischer wässriger Lösung.

pH 5,0 bei 50°C

Kurz aufkochen, heiß durch Watte filtrieren,

30 min. bei 100°C erhitzen (nicht autoklavieren)

(+) im Labor des Institutes für Lebensmittelhygiene der Freien Universität Berlin (Leiter: Prof. Dr. H. J. SINELL) verwendete Nährböden.

3. Nährböden zur Differentialdiagnostik von anaerob wachsenden grampositiven Stäbchen :

a) Polytropes Nährmedium zum Nachweis von Beweglichkeit, Nitratreduktion, Gelatinase-Bildung (+)

Gelatine		30,0 g
Trypton		10,0 g
Hefeextrakt		5,0 g
Natriumazetat		5,0 g
Natriumzitrat		5,0 g
Fleischextrakt		4,0 g
K_2HPO_4		2,0 g
KNO_3		2,0 g
Glukose		1,0 g
Agar-Agar		1,0 g
$MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$ (20 ml einer 1 %igen Lösung)		0,2 g
$MnSO_4 \cdot 4\ H_2O$ (5 ml einer 1 %igen Lösung)		0,05 g
Aqua dest.	ad	1000 ml

pH 7,3

Abfüllen in Reagenzgläser zu 4 ml; 15 min. bei 121°C sterilisieren.

b) Medium zur Prüfung von Gasbildung (Basalmedium für die biochemische Bifidus-Testung) (+)

Tomatensaft	400 ml
Caseinpepton-Lösung, peptisch verdaut	50 ml
Pepton aus Fleisch	5,0 g
Pepton aus Casein, tryptisch verdaut	5,0 g
Hefeextrakt	5,0 g
NaCl	2,5 g
l-Cystin	0,5 g

(+) im Labor des Institutes für Lebensmittelhygiene der Freien Universität Berlin (Leiter: Prof. Dr. H.J.SINELL) verwendete Nährböden.

Natriumthioglykolat		0,5 g
Glukose		0,5 g
Aqua dest.	ad	1000 ml

1 1/2 bis 2 Stunden bei 100°C sterilisieren, dann pH auf 7,0 einstellen. 10 min. aufkochen und durch Papierfilter geben. Abfüllen (mit Gärröhrchen).

30 min. bei 110°C autoklavieren.

4. Aerob bebrütete Nährböden :

a) 3 % Menschenblut-Agar (13)

b) Fuchsin-Milchzucker-Agar-Platten nach ENDO (13)

c) Lactose-Indikator-Nährböden nach MC CONKEY (13)

d) Dextrose-Pepton-Agar nach SABOURAUD (13)

II. Zusammenstellung der verabreichten Kostformen

1. Nahrung A und Nahrung B

Es handelt sich um Milchfertignahrungen in Pulverform, die mit Citronensaft gesäuert sind. Trinkfertig = 17 g Pulver in 100 ml H_2O (= 17 %ig)

	A	B	
Protein	3,0	3,0	
Fett	2,5	2,5	mit bifidogenem
K.H.	10,5	10,5	Faktor
Min.Stoffe	0,53	0,53	
Kcal	80	80	

K.H.-Spektrum :

Lactose	4,4
Malto-Dextrin	2,5
Saccharose	2,1
Stärke	1,5
	10,5 ges.K.H.

Relation der Kalorien :

Protein - Cal. = ca 16 % der Ges.-Kalorien
Fett - Cal. = ca 30 % der Ges.-Kalorien
K.H. - Cal. = ca 54 % der Ges.-Kalorien

2. Eiweißmilch

Die Eiweißmilch wurde aus der Naßkonserve (Konzentrat der Firma TÖPFER /Dietmannsried i.Allg. bereitet.
Verdünnung 1 : 2, mit 2 %igem Reisschleim.

Protein	3,0 g/100 ml
Fett	2,5 g/100 ml
K.H.	9,0 g/100 ml
Min.Stoffe	0,5 g/100 ml
Kcal	72

K.H.-Spektrum :

Lactose	2,0
Saccharose	5,0
Stärke/Reis	2,0
	9,0 ges.K.H.

Relation der Kalorien :

Protein - Cal. = ca 17 %
Fett - Cal. = ca 32 %
K.H. - Cal. = ca 51 %

3. Alpenmilch^{R} mit Lactulose

Die 2/3 - Milch mit 3 % Lactose + 2 % Reisschleim wurde aus Pulvermilch (Alpenmilch = Trinkmilch mit 3 % Fett) hergestellt.

Protein	2,2 g/100 ml	
Fett	2,0 g/100 ml	
K.H.	8,0 g/100 ml	(davon 6,0 Lactose)
Min. Stoffe	0,5 g/100 ml	
Kcal	60	

Milchzucker/Eiweiß-Quotient (PETUELY) = ca. 2,75

+ 3 ml Lactulose-Sirup (Fa. Philips-Duschas, Amsterdam/Holland) auf 100 ml obiger Nahrung

(= 1,65 Lactulose + 0,22 Lactose + 0,49 Galactose)

Relation der Kalorien:

Protein - Cal. = ca 13 %

Fett - Cal. = ca 26 %

K.H. - Cal. = ca 61 %

Herrn Professor Dr.med. H.P.R. Seeliger möchte ich an dieser Stelle für die freundliche Überlassung des Themas, die zahlreichen wertvollen Hinweise bei der Ausführung der Untersuchungen und Abfassung dieser Arbeit, ganz besonders jedoch für die Möglichkeit, an seinem Institut zu arbeiten, meinen herzlichen Dank aussprechen.

G) LITERATURVERZEICHNIS

1. ADAM, A.: Antibakterielle und symbiotische Ernährung enteritiskranker und gesunder Säuglinge. Ärztl. Forsch. 8, 168 (1954)

2. BOVENTER, K.: Bacterium bifidum und seine Bedeutung. Erg. Hyg. Bakt. etc. 26, 193 (1949)

3. BRAUN, O.H.: Zur Methodik der quantitativen Analyse der Darmflora. Zbl. Bakt. 174, 390 (1959)

4. BRAUN, O.H. et al.: Methoden der bakteriologischen Stuhluntersuchung Zbl. Bakt. I. Orig. 200, 405 (1966)

5. BREWER, J.H., D.L. ALLGEIER and C.B. LAUGHLIN: Improved anaerobic indicator. Appl. Mikrobiol. 14, 985 (1966)

6. DEHNERT, J.: Untersuchung über die grampositive Stuhlflora des Brustmilchkindes. I. Mitteilung: Zbl. Bakt. I Ref. 163, 481 (1957a)

7. DEHNERT, J.: Untersuchung über die grampositive Stuhlflora des Brustmilchkindes. II. Mitteilung: Zbl. Bakt. I. Orig. 169, 66 (1957b)

8. DEHNERT, J.: Serologische Untersuchungen zur Identifizierung der Stuhlkeime frauenmilchgenährter Kinder. Ann. Paediat. 192, 195 (1959)

9. DEHNERT, J.: Über die Bedeutung der Intestinalbesiedlung beim Menschen. Habil. Schrift, Heidelberg 1961

10. DEHNERT, J.: Von den Vorteilen der Muttermilchernährung. Symp. über die Ernährung der Frühgeborenen, Bad-Schachen, Mai 1964 (Karger, Basel/New York 1965)

11. FRISELL, E.: Studies on Bacterium bifidum in healthy infants. A clinical bacteriological investigation. Acta paediat. (Uppsala) Supp. 80 (1951) Almquist u. Wiksells (Uppsala)

12. GUTHOF, O.: Streptokokken und Dysbakterieproblem. Zbl. Bakt. I. Orig. 170, 327 (1957)

13. HABS, H. und H.P.R. SEELIGER: Bakteriologisches Taschenbuch. Joh. Ambrosius Barth, Leipzig 38. Auflage (1967)

14. HAENEL, H.: Neue Erkenntnisse zur Zusammensetzung der menschlichen Darmflora. Verhdl. Dt. Ges. Inn. Med. 63, 130 (1957a)

15. HAENEL, H. und G. FELDHEIM: Über den Einfluß des Abstillens auf die faecale Flora des Säuglings. Arch. Kinderheilk. 157, 226 (1957b)

16. HAENEL, H., W. MÜLLER-BEUTHOW und A. SCHEUNERT: Der Einfluß extremer Kostformen auf die faecale Flora des Menschen. Zbl. Bakt. I. Orig. 169, 45 (1957c)

17. HAENEL, H., G. FELDHEIM und W. MÜLLER-BEUTHOW: Zur mikrobiologischen Ökologie des Menschen. Zbl. Bakt. I. Orig. 172, 73 (1958a)

18. HAENEL, H., G. FELDHEIM, W. MÜLLER-BEUTHOW und R. RUTTLOFF: Versuche zur Umstimmung der faecalen Flora des gesunden Erwachsenen. Zbl. Bakt. I. Orig. 173, 76 (1958b)

19. HOFFMANN, K. und H.U. SAUERBREI: Über die Stuhlflora von Frühgeborenen im Klinikmilieu bei Ernährung mit roher und gekochter Frauenmilch. Z. Kinderheilk. 81, 367 (1958)

20. HOFFMANN, K., D.A.A. MOSEL, W. KORUS und J.H. VAN DE KAMER: Untersuchungen über die Wirkungsweise der Lactulose (Galactosidofructose) im Darm. Klin. Wschr. 3, 126 (1964)

21. KANDLER, O.: Was wissen wir heute über die Laktobazillen des Darmes und deren Bedeutung für den Menschen. Diaita 15, 20 (1969) 15, 10 (1969)

22. KIENITZ, M.: Klinische Bedeutung der Darmbesiedlung in der Pädiatrie. Ernährungsforsch. 10, 392 (1965)

23. KLUDAS, M.: Züchtung von Lactobacillus bifidus in und auf einfachen Nährmedien. Zbl. Bakt. I. Orig. 174, 71 (1959)

24. KOCH, F.E.: Eine einfache Anaerobenzüchtung in Petrischalen. Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 132, 358 (1934)

25. LERCHE, M. und G. REUTER: Isolierung und Differenzierung anaerober Lactobacilleae aus dem Darm erwachsener Menschen. Zbl. Bakt. I. Orig. 182, 324 (1961)

26. MAYER, J.B.: Das Bifidumproblem. Erg. Inn. Med. N. F. 7, 429 (1956)

27. MEYERHOFER, F. und F. PETUELY: Untersuchungen zur Regulation der Darmtätigkeit des Erwachsenen mit Hilfe der Lactulose. Wien. klin. Wschr. 71, 865 (1959)

28. OCKLITZ, H.W. und E.F. SCHMIDT: Stuhlfloraanalysen bei mit Antibiotica behandelten Säuglingen. Zbl. Bakt. I. Orig. 174, 402 (1959)

29. ORLA-JENSEN, S., E. OLSEN und T. GEILL: Senility and intenstinal flora. Kgl. Danske Vidensk. Selskab. Biologiske Skrifter III, 4 (1945)

30. PETUELY, F.: Über das Bifidus-Problem. Münch. Med. Wschr. 98, 263 (1956)

31. PETUELY, F.: Bifidusflora bei Flaschenkindern durch bifidogene Substanzen (Bifidusfaktor). Z. Kinderheilk. 79, 174 (1957)

32. PETUELY, F. und G. LINDNER: Kritische Untersuchungen über die Darmflora. I. Mitteilung: Die Verschiebung der Keimrelationen im gramgefärbten Ausstrich. Zbl. Bakt. I. Orig. 177, 332 (1960)

33. PETUELY, F. und G. LINDNER: Kritische Untersuchungen über die Darmflora. II. Mitteilung: Die Methode der quantitativen Analyse mit Hilfe von fluoreszenzmarkierten Antikörper. Zbl. Bakt. I. Orig. 177, 340 (1960)

34. PETUELY, F. und G.LINDNER: Kritische Untersuchungen über die Darmflora.
III. Mitteilung: Die Darmflora des Brustkindes.
Zbl.Bakt.I.Orig. 195, 347 (1960)

35. RETTGER, L.F., M.N.LEVY, L.WEINSTEIN und J.E.WEISS: Lactobacillus acidophilus and its therapeutic Application.
Yale Univ.Press, New Haven (1935)

36. REUTER, G.: Eine Methode zur Züchtung des anaeroben Lactobacillus bifidus aus dem Stuhl Erwachsener.
Zbl.Bakt.I.Orig. 181, 554 (1961)

37. REUTER, G.: Vergleichende Untersuchungen über die Bifidusflora im Säuglings- und Erwachsenenstuhl.
Zbl.Bakt.I.Orig. 191, 486 (1963)

38. REUTER, G.: Zur Beeinflußbarkeit der Darmflora des Menschen im Säuglings- und Erwachsenenalter durch die Nahrung insbesondere auch durch ihren Gehalt an Laktobazillen.
Med.u.Ernährung. 8, 188 (1963)

39. REUTER, G.: Erfahrung mit Nährböden für die selektive mikrobiologische Analyse von Fleischerzeugnissen.
Arch.Lebensmittelhyg. 19, 53 (1968)

40. SEELIGER, H.P.R.: Das Dysbakterieproblem vom Standpunkt des Mikrobiologen.
Zbl.Bakt.I.Orig. 170, 288 (1957/58)

41. SEELIGER, H.P.R. und H.WERNER: Quantitative und qualitative Untersuchungen über die anaeroben Lactobacillen im Säuglings- und Erwachsenenstuhl.
Z.Hyg. 148, 383 (1962)

42. SEELIGER, H.P.R. und H.WERNER: Methodik der Darmflorauntersuchung.
Ernährungsforsch. 10, 509 (1966)

43. SEELIGER, H.P.R. und B.GEDEK: Methoden und Ergebnisse der bakteriellen Stuhluntersuchung.
Zbl.Bakt.I.Orig. 203, 518 (1967)

44. SCHLOSSMANN, A. und E. MORO: Die Ernährung des Erwachsenen mit Kuh- und mit Frauenmilch. Z. Biol. 45, 261 (1904)

45. TISSIER, H.: Recherches sur la flore intestinale de nourrisson, Paris, 1900, 85.

Lebenslauf

Am 15. November 1938 wurde ich, Mathilde Helene Matt, geb. Römer als dritte Tochter des Metzgermeisters Heinrich Römer und seiner Ehefrau Minna, geb. Pfeil, in Kirchhain, Kreis Marburg geboren.

Nach vier Jahren Volksschule und einem Jahr Mittelschule besuchte ich das Mädchen-Lyzeum und anschließend die Freie Waldorfschule in Marburg, wo ich 1960 die Reifeprüfung bestand.

Im Sommer-Semester 1960 begann ich das Medizinstudium an der Philipps-Universität in Marburg, legte dort 1961 die Naturwissenschaftliche Vorprüfung und 1963 die Ärztliche Vorprüfung ab. Nach vier Klinischen Semester an dieser Universität wechselte ich 1965 an die Julius-Maximilians-Universität Würzburg über, wo ich am 18. Oktober 1967 das Medizinische Staatsexamen bestand.

Am 27. Januar 1968 heiratete ich den Assistenzarzt Dr. med. Peter A. Matt.

Die Medizinal-Assistentenzeit verbrachte ich am Stadtkrankenhaus Korbach/Waldeck und am Institut für Hygiene und Mikrobiologie der Julius-Maximilians-Universität Würzburg.

Die Bestallung als Ärztin erhielt ich mit Gültigkeit zum 31. Dezember 1969.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Mathilde Helene Matt

Offset-Druck Gugel, Würzburg
Marcusstraße 10

Offset-Druck Gugel, Würzburg
Marcusstraße 10